



**RECOMBINATION SYSTEMS AND A METHOD FOR REMOVING NUCLEIC ACID SEQUENCES FROM THE GENOME OF EUKARYOTIC ORGANISMS****Publication number:** WO03004659**Publication date:** 2003-01-16**Inventor:** PUCHTA HOLGER (DE); BIESGEN CHRISTIAN (DE)**Applicant:** SUNGENE GMBH & CO KGAA (DE); INST  
PFLANZENGENETIK & KULTUR (DE); PUCHTA  
HOLGER (DE); BIESGEN CHRISTIAN (DE)**Classification:****- International:** A01H5/00; A01K67/027; C12N1/15; C12N1/19;  
C12N1/21; C12N5/10; C12N15/09; C12N15/82;  
C12N15/90; A01H5/00; A01K67/027; C12N1/15;  
C12N1/19; C12N1/21; C12N5/10; C12N15/09;  
C12N15/82; C12N15/87; (IPC1-7): C12N15/82**- european:** C12N15/82A10; C12N15/90**Application number:** WO2002EP07281 20020702**Priority number(s):** DE20011031786 20010704**Also published as:** WO03004659 (A3)  
 WO03004659 (A3)  
 EP1407034 (A3)  
 EP1407034 (A3)  
 EP1407034 (A2)  
 US2005172365 (A1)  
 MXPA03011844 (A)  
 EP1407034 (A0)  
 DE10131786 (A1)  
 CN1628174 (A)  
 CA2451492 (A1)

less &lt;&lt;

**Cited documents:** US5792632  
 US5527695  
 XP002236852  
 XP002236853  
 XP002236854**Report a data error here****Abstract of WO03004659**

The invention relates to recombination systems and to a method for removing nucleic acid sequences from the chromosomal DNA of eukaryotic organisms. The invention also relates to transgenic organisms (preferably plants), containing said systems or produced by said method.

---

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

Best Available Copy

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
16. Januar 2003 (16.01.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 03/004659 A3**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **C12N 15/90**,  
15/82, 5/00, A01K 67/027

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP02/07281

(22) Internationales Anmeldedatum:  
2. Juli 2002 (02.07.2002)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
101 31 786.7 4. Juli 2001 (04.07.2001) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme  
von US): **SUNGENE GMBH & CO. KGAA** [DE/DE];  
Corrensstrasse 3, 06466 Gatersleben (DE). **INSTITUT  
F. PFLANZENGENETIK** [DE/DE]; u. Kulturpflanzen-  
forschung, Corrensstr. 3, 06466 Gatersleben (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **PUCHTA, Holger**  
[DE/DE]; Über der Eine 16a, 06449 Aschersleben (DE).  
**BIESGEN, Christian** [DE/DE]; Reichenstr. 29, 06484  
Quedlinburg (DE).

(74) Anwalt: **BIEBERBACH, Andreas**; BASF Aktiengesellschaft, 67056 Ludwigshafen (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen  
Recherchenberichts: 25. September 2003

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen  
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on  
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe  
der PCT-Gazette verwiesen.

WO 03/004659 A3

(54) Title: RECOMBINATION SYSTEMS AND A METHOD FOR REMOVING NUCLEIC ACID SEQUENCES FROM THE  
GENOME OF EUKARYOTIC ORGANISMS

(54) Bezeichnung: REKOMBINATIONSSYSTEME UND VERFAHREN ZUM ENTFERNEN VON NUKLEINSÄURESE-  
QUENZEN AUS DEM GENOM EUKARYOTISCHER ORGANISMEN

(57) Abstract: The invention relates to recombination systems and to a method for removing nucleic acid sequences from the chro-  
mosomal DNA of eukaryotic organisms. The invention also relates to transgenic organisms (preferably plants), containing said  
systems or produced by said method.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft Rekombinationssysteme und Verfahren zum Entfernen von Nukleinsäuresequenzen  
aus der chromosomalen DNA eukaryotischer Organismen, sowie transgene Organismen - bevorzugt Pflanzen - die diese Systeme  
enthalten bzw. mit diesen Verfahren hergestellt wurden.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inte Application No  
PCT/EP 02/07281

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 7 C12N15/90 C12N15/82 C12N5/00 A01K67/027

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 C12N A01K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 792 632 A (NICOLAS JEAN-FRANCOIS ET AL) 11 August 1998 (1998-08-11)  figures 29,30	1-7, 10-16, 19-24
X	US 5 527 695 A (HODGES THOMAS K ET AL) 18 June 1996 (1996-06-18)  figures 1A,1B	1-7, 10-16, 19-24
	----- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

1 April 2003

Date of mailing of the international search report

16/04/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Schönwasser, D

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 02/07281

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PUCHTA H. ET AL.: "Two different but related mechanisms are used in plants for the repair of genomic double-strand breaks by homologous recombination" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, USA, vol. 93, May 1996 (1996-05), pages 5055-5060, XP002236852 figure 1	1, 2, 4-7, 19-24
P, X	SIEBERT R. ET AL.: "Efficient Repair of Genomic Double-Strand Breaks by Homologous Recombination between Directly Repeated Sequences in the Plant Genome" THE PLANT CELL, vol. 14, May 2002 (2002-05), pages 1121-1131, XP002236853 the whole document	1-7, 10-16, 19-24
A	AGGARWAL A.K. ET AL.: "Novel site-specific DNA endonucleases" CURRENT OPINION IN STRUCTURAL BIOLOGY, vol. 8, 1998, pages 19-25, XP002236854 the whole document	1-7, 10-16, 19-24

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/07281

<b>A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES</b>		
CIB 7 C12N15/90 C12N15/82 C12N5/00 A01K67/027		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
<b>B. RECHERCHIERTE GEBIETE</b>		
Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)		
CIB 7 C12N A01K		
Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)		
EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS		
<b>C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN</b>		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 5 792 632 A (NICOLAS JEAN-FRANCOIS ET AL) 11. August 1998 (1998-08-11) Abbildungen 29, 30	1-7, 10-16, 19-24
X	US 5 527 695 A (HODGES THOMAS K ET AL) 18. Juni 1996 (1996-06-18) Abbildungen 1A, 1B	1-7, 10-16, 19-24
----- -/-		
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
<p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:</p> <p>"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist</p> <p>"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)</p> <p>"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p> <p>"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p> <p>"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p> <p>"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden</p> <p>"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist</p> <p>"&amp;" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
1. April 2003		16. April 2003
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde		Bevollmächtigter Bediensteter
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Schönwasser, D
Telefaxnr.		Telefonnr.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/07281

C (Fortsetzung). ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	<p>PUCHTA H. ET AL.: "Two different but related mechanisms are used in plants for the repair of genomic double-strand breaks by homologous recombination"</p> <p>PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, USA, vol. 93, Mai 1996 (1996-05), Seiten 5055-5060, XP002236852</p> <p>Abbildung 1</p>	1, 2, 4-7, 19-24
P, X	<p>SIEBERT R. ET AL.: "Efficient Repair of Genomic Double-Strand Breaks by Homologous Recombination between Directly Repeated Sequences in the Plant Genome"</p> <p>THE PLANT CELL, vol. 14, Mai 2002 (2002-05), Seiten 1121-1131, XP002236853</p> <p>Das ganze dokument</p>	1-7, 10-16, 19-24
A	<p>AGGARWAL A.K. ET AL.: "Novel site-specific DNA endonucleases"</p> <p>CURRENT OPINION IN STRUCTURAL BIOLOGY, vol. 8, 1998, Seiten 19-25, XP002236854</p> <p>Das ganze dokument</p>	1-7, 10-16, 19-24



THIS PAGE BLANK (USPTO)



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)